

Proteinograma sérico de bovinos da raça Curraleiro

[Serum protein concentration in Curraleiro bovine breed]

R.S. Juliano¹, M.C.S. Fioravanti², J.J. Fagliari³, P.C. Silva³, L.A.F. Silva²

¹CPAP - Embrapa Pantanal

Caixa Postal 109

79320-900 – Corumbá, MS

²Escola de Veterinária - UFG – Goiânia, GO

³Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP – Jaboticabal, SP

RESUMO

Estudou-se o perfil eletroforético das proteínas séricas de bovinos sadios da raça Curraleiro por meio da técnica de eletroforese em gel de acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio. Utilizaram-se amostras de soro sanguíneo de 228 bovinos da raça Curraleiro, 51 machos e 177 fêmeas, com idades entre sete meses e 12 anos, pertencentes a dois rebanhos localizados nos Estados de Goiás e Tocantins. Foram quantificadas proteína total e concentração plasmática de fibrinogênio. Verificaram-se variações nas concentrações das diferentes frações proteicas. Foram detectadas 26 proteínas e identificadas 10 delas. A ceruloplasmina esteve ausente em 78,1% dos indivíduos, e a α -antitripsina não foi detectada em nenhum animal. Proteína total, globulina, IgA, IgG e fibrinogênio aumentaram com a idade e houve correlação positiva entre os níveis séricos de haptoglobina e α 1-glicoproteína ácida.

Palavras-chave: bovino, raça nativa, SDS-PAGE, proteína, fibrinogênio

ABSTRACT

The eletrophoretic serum protein profile in healthy Curraleiro bovine breed was studied by dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis. A total of 228 serum samples from Curraleiro cattle, being 51 males and 177 females were analyzed. They were from seven month to 12-year-old and were raised in two farms of Goiás and Tocantins states. Total protein and plasma fibrinogen quantification were performed. It was possible to verify variation in proteins fractions concentration. Twenty-six proteins were detected and ten of them were identified. Ceruloplasmin was absent in 78,10% of animals and α -antitrypsin was not detected. The total protein, globulin, IgA, IgG, and fibrinogen increased with age and there was a positive correlaction between haptoglobin and α 1-acid glycoprotein.

Keywords: cattle, native breed, SDS-PAGE, protein, fibrinogen

INTRODUÇÃO

O fracionamento eletroforético representa um dos mais confiáveis métodos de identificação de proteínas sanguíneas. Gordon (1995) relatou que a técnica de eletroforese em gel de acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) é relativamente simples e de baixo custo, possibilitando a visualização de baixas concentrações séricas e a quantificação de várias proteínas com boa acurácia. O emprego da

técnica SDS-PAGE em medicina veterinária pode ser útil na avaliação da cinética das imunoglobulinas e de proteínas de fase aguda.

As imunoglobulinas representam a imunidade humoral dos animais, e sua quantificação pode ser especialmente importante na avaliação da imunidade colostrar conferida aos bezerros nas primeiras 48 horas de vida (Fagliari et al., 2006).

O monitoramento da concentração das proteínas de fase aguda representa uma ferramenta

Recebido em 10 de agosto de 2008

Aceito em 8 de abril de 2009

E-mail: raquel@cpap.embrapa.br

importante no diagnóstico precoce, na avaliação do grau de severidade e acompanhamento da recuperação de enfermidades inflamatórias e infecciosas e na detecção de diferentes condições de estresse, com a finalidade de priorizar o bem-estar animal (Petersen et al., 2004). Entretanto, a padronização dos métodos e dos valores de corte é uma necessidade, ainda não totalmente estabelecida (Skinner, 2001; Ramirez et al., 2002).

A raça Curraleiro (*Bos taurus ibericus*) é um importante patrimônio genético trazido pelos portugueses ainda no período colonial, que sofreu seleção natural de aproximadamente 500 anos. No entanto, essa população está sob risco de extinção e faz-se necessária a ampliação do conhecimento sobre suas características fisiológicas como forma de estabelecer métodos para a elaboração de estratégias de manejo, acompanhamento e conservação da raça.

O objetivo deste trabalho foi estabelecer o proteinograma sérico e a concentração de fibrinogênio plasmático da raça Curraleiro, em diferentes faixas etárias.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinadas amostras de soro sanguíneo de 228 bovinos da raça Curraleiro, 51 machos e 177 fêmeas, com idade variando entre sete meses e 12 anos, pertencentes a dois rebanhos localizados nos Estados de Goiás e Tocantins. Todos os animais foram submetidos a exames semiotécnicos e considerados clinicamente hígidos.

A concentração sérica de proteína total foi determinada pelo método do biureto, utilizando-se conjunto de reagentes comercial¹ e leitura da amostra em espectrofotômetro². Para o fracionamento das proteínas séricas, utilizou-se a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE, proposta por Weber e Osborn (1969). A leitura das frações proteicas foi realizada em videodensitômetro³. As proteínas foram identificadas comparando-se sua mobilidade eletroforética com a de marcador com pesos moleculares de 28.000 dáltons (D),

45.000 D, 66.000 D, 97.400 D, 116.000 D e 205.000 D e das proteínas purificadas⁴ albumina, transferrina, ceruloplasmina, α_1 -antitripsina, haptoglobina, imunoglobulina A (IgA) e imunoglobulina G (IgG) de cadeias leve e pesada.

Foi realizada a quantificação de fibrinogênio, pela técnica de precipitação no tubo de microematócrito a 56°C, segundo Jain (1993).

Os resultados foram analisados pelo *software* GraphPad Prism 5 for Windows⁵, comparando-se as médias entre grupos pelos testes não paramétricos Kruskal-Wallis ou Mann-Whitmann. Utilizou-se a correlação de Spearman e foram considerados três níveis de correlação para a interpretação dos resultados obtidos: fraco (de 0% a 30% de probabilidade); médio (de 31% a 70% de probabilidade) e alto (a partir de 70% de probabilidade), conforme descrito por Sampaio (1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 26 proteínas foi verificado no traçado densitométrico obtido em SDS-PAGE, dez delas identificadas nominalmente (Tab. 1). Muitas frações proteicas estiveram ausentes em alguns animais, principalmente a ceruloplasmina, uma proteína de fase aguda (PFA). A α_1 -antitripsina, outra PFA, não foi detectada em nenhum animal, mas não foi estabelecido um padrão de comportamento em relação à ausência das proteínas na população, como foi realizado por Fagliari et al. (2006), no qual foram identificados três grupos distintos de proteinogramas em bezerros. Entretanto, deve-se levar em consideração que os animais utilizados eram provenientes de diferentes propriedades e grupos genéticos, portanto uma variação qualitativa e quantitativa do perfil proteico era esperada.

A concentração de proteína total (PT) e de globulinas (G) apresentou média e desvio-padrão dentro de valores citados por Barini (2007) para animais da raça Curraleiro, mas o teor de albumina (A) obtido foi maior do que o encontrado pela autora. Souza (1997) descreveu concentrações de PT para a raça Holandesa

¹Labtest® - Belo Horizonte, Brasil.

²Bioplus®, modelo Bio-2000 IL-A2 - São Paulo, Brasil.

³Shimadzu CS9000, Shimadzu Corp. - Kyoto, Japão.

⁴Sigma Chemical Co. - Saint Louis, MO, EUA.

⁵GraphPad Software, Inc. - San Diego, CA, EUA.

Proteinograma sérico de bovinos...

(7,57±0,09g/dL) próximas às obtidas neste trabalho. Comparando com resultados citados por Souza et al. (2004), os valores de A foram maiores do que os relatados para raça Jersey (3,24±0,28g/dL) e Holandesa (3,08±0,25g/dL), entretanto a dosagem de G foi maior que a da raça Jersey (3,13±0,81g/dL) em animais mais velhos, mas semelhante à da Holandesa (3,73±0,99g/dL). Jordan et al. (2006) verificaram valores mais elevados de PT (8,9±1,4g/dL) e G (5,5±1,3g/dL) e mais baixos de A (3,1±0,4g/dL), em animais da raça Toro de Lídia, enquanto Grünwaldt et al. (2005) obtiveram valores maiores de A (4,20±0,58g/dL) e menores de G (3,30±0,13g/dL) em vacas da raça Criollo Argentino.

Tabela 1. Frações proteicas e pesos moleculares (Dáltons; D) detectados no proteinograma sérico de 228 bovinos da raça Curraleiro, por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida

Fração proteica	Peso molecular (D)
Não identificada*	165.000
Não identificada	158.000
Não identificada	150.000
IgA	142.000
Não identificada	138.000
Não identificada	122.000
Não identificada	113.000
Ceruloplasmina	110.000
Não identificada	101.000
Não identificada	95.000
Fosforilase	92.000
Hemopexina	83.000
Transferrina	75.000
Albumina	66.000
IgG cadeia pesada	60.000
Não identificada	53.000
Haptoglobina	44.000
α1-Glicoproteína ácida	40.000
Não identificada	38.000
Não identificada	36.000
IgG cadeia leve	32.000
Não identificada	30.000
Não identificada	26.000
Não identificada	23.000
Não identificada	18.000
Hemoglobina	16.000

*Não identificada nominalmente porque ainda não há disponibilidade de proteína purificada para tal fim.

As concentrações de PT e G no soro sanguíneo aumentaram (P<0,05) com a idade, enquanto o teor de A manteve-se constante nas diferentes faixas etárias (Tab. 2). Barini (2007) observou comportamento semelhante em animais dessa mesma raça.

Segundo Jain (1993), o leve decréscimo na concentração de A e um aumento progressivo de G são fisiológicos e estão relacionados à maior produção de imunoglobulinas (Ig), pela exposição antigênica dos indivíduos com o avançar da idade. Isso poderia explicar o aumento significativo (P<0,05) dos níveis de IgA e IgG, a partir dos 25 meses de idade, encontrados nestes animais.

A relação A:G foi semelhante à encontrada por Souza et al. (2004), para as raças Jersey (1,10±0,29g/dL), Holandesa (0,91±0,36). Na raça Criollo Argentino (1,27g/dL), estudada por Grünwaldt et al. (2005), a relação também foi próxima à deste estudo, mas maior que a da raça Toro de Lídia (Jordan et al., 2006), que foi de 0,56g/dL.

Os valores encontrados de fibrinogênio (F) estão dentro da média e desvio padrão encontrados por Borges (2008), que estudou bovinos naturalizados da raça Pantaneira e citou 0,47±0,19g/dL para animais até dois meses de idade, 0,35±0,17g/dL de seis a 12 meses, seguido de elevação constante até o pico máximo de valores em animais com mais de 60 meses (493,65±199,52mg/dL), isto é, houve aumento significativo dessa proteína com o avançar da idade. Da mesma forma, a concentração de F foi menor (P<0,05) até os 12 meses em bovinos da raça Curraleiro. A média da relação PT:F situou-se na faixa de normalidade estabelecida por Jain (1993). Esse autor citou não haver alteração dos níveis plasmáticos de fibrinogênio com a mudança de idade, entretanto alguns fatores, como alteração hidroeletrólítica, vacinação e gestação e parto, podem elevar temporariamente sua concentração.

A literatura cita valores entre 0,08 a 0,8g/dL para concentração de IgA em bovinos (Buttler, 1971). Segundo Kiddy et al. (1971), os níveis de IgA diferem nas semanas pré (0,12±0,008g/dL) e pós parto (0,05±0,01g/dL). Fagliari et al. (2006), ao avaliarem a transferência passiva dessa Ig, encontraram valores entre 0,26 e 0,40g/dL em bezerros da raça Holandesa, 48h após o nascimento. A função da IgA na resposta imunológica dos animais de produção não foi totalmente elucidada, mas seu papel parece estar relacionado a um estímulo inflamatório como uma segunda linha de defesa na eliminação de patógenos que tenham rompido a barreira das superfícies mucosas (Snoeck et al., 2006).

Tabela 2. Média, desvio-padrão (s) e amplitude de variação dos valores de proteína total (PT), das frações proteicas (g/dL) e das relações PT:fibrinogênio (F) e albumina(A):globulina(G) de bovinos da raça Curraleiro de diferentes faixas etárias

Parâmetro	Faixa etária (meses)					
	0 a 6 (n=19)	7 a 12 (n=36)	13 a 24 (n=50)	25 a 36 (n=32)	37 a > 48 (n=91)	
PT (g/dL)	Média±s	7,63±0,74	7,64±1,19	7,97±0,95	8,03±0,96	8,30±0,99
	amplitude	6,50-9,10	5,40-9,80	4,80-9,60	5,80-10,00	6,50-11,00
Fibrinogênio (g/dL)	Média±s	0,40±0,3	0,44±0,25	0,55±0,22	0,55±0,25	0,54±0,25
	amplitude	0,20-1,30	0,10-1,10	0,10-1,10	0,20-1,00	0,10-1,40
Albumina (g/dL)	Média±s	3,88±0,54	3,92±0,58	4,00±0,59	3,99±0,51	3,99±0,54
	amplitude	2,24-5,32	2,87-5,11	2,67-5,71	2,90-5,19	2,66-5,45
Globulinas (g/dL)	Média±s	3,75±0,86	3,71±0,94	3,97±0,84	4,30±0,75	4,30±0,77
	amplitude	2,65-5,38	2,14-6,28	2,12-5,84	2,90-5,55	3,02-6,22
IgA (g/dL)	Média±s	0,31±0,07	0,29±0,08	0,28±0,09	0,33±0,06	0,33±0,09
	amplitude	0,18-0,50	0,15-0,48	0,14-0,72	0,20-0,46	0,15-0,64
IgG (g/dL)	Média±s	2,29±0,71	2,22±0,68	2,42±0,63	2,61±0,47	2,78±0,55
	amplitude	1,44-3,65	1,7-4,07	1,33-3,87	1,49-3,41	1,45-4,24
PT:F	Média±s	27,46±17,56	21,88±17,81	18,13±14,23	18,42±9,53	19,56±11,50
	amplitude	5,00-80,00	6,00-84,00	7,00-84,00	7,00-39	6,00-70,00
A:G	Média±s	1,11±0,37	1,12±0,30	1,06±0,29	1,01±0,17	0,96±0,21
	amplitude	0,50-1,70	0,61-1,68	0,50-1,82	0,69-1,51	0,54-1,60

Moll (1971) descreveu níveis séricos de IgG para a raça Holandesa (1,45±0,63g/dL) e Jersey (1,05±0,41g/dL). Os valores obtidos no presente trabalho foram mais altos que os descritos por Fagliari et al. (2006) de 1,96±0,26g/dL, para bezerras recém-nascidas. Feitosa e Birgel (2000) citaram valores próximos no pré-parto (2,46±0,83g/dL) e parto (2,290±0,79g/dL), em vacas da raça Holandesa, entretanto, aos 30 (3,46±0,88g/dL) e 180 dias (3,74±0,79g/dL) após o parto, sua concentração foi maior do que a encontrada para a raça Curraleiro com idade acima de 25 meses.

A concentração de ceruloplasmina (Tab. 3) foi menor que a encontrada por Fagliari et al. (2006)

em bezerras recém-nascidas. Essa proteína de fase aguda esteve ausente em 78,1% dos animais amostrados, situação descrita em um grupo de animais por esses autores. Em humanos, existem variantes eletroforéticas dessa proteína, e os mecanismos que interferem na concentração sérica e nas suas funções *in vivo* na homeostase do ferro e cobre são pouco conhecidos. Em suínos, a deficiência de cobre está associada à diminuição dos níveis de ceruloplasmina, com consequente acúmulo de íons ferro nos tecidos, enquanto em cães essa proteína atua como ferroxidase, responsável pela captação desse elemento, incorporando-o à transferrina (Hellman e Gitlin, 2002)

Tabela 3. Média, desvio-padrão (s) e amplitude de variação dos valores (mg/dL) das frações proteicas nominalmente identificadas, obtidas em eletroforese em gel de poliacrilamida, de bovinos da raça Curraleiro de diferentes faixas etárias

Proteína	Faixa etária (meses)					
	0 a 6 (n=19)	7 a 12 (n=36)	13 a 24 (n=50)	25 a 36 (n=32)	37 a > 48 (n=91)	
Ceruloplasmina	Média±s	0,96±4,20	0,50±1,70	0,65±1,92	1,54±4,58	1,35±4,27
	amplitude	0-18,30	0-8,56	0-11,31	0-22,41	0-29,10
Fosforilase	Média±s	16,42±13,31	16,58±17,30	20,97±18,59	15,92±15,28	23,36±23,61
	amplitude	0-53,72	0-56,357	0-78,43	0-53,08	0-177,97
Hemopexina	Média±s	68,00±38,67	54,28±55,31	67,73±63,70	81,40±66,33	79,17±65,59
	amplitude	0-137,54	0-216,17	0-277,17	0-302,96	0-266,75
Transferrina	Média±s	251,61±210,51	199,07±125,30	241,50±172,69	242,02±167,29	209,06±178,38
	amplitude	0-676,80	0-740,77	0-796,92	0-752,35	0-920,73
Haptoglobina	Média±s	28,15±18,64	25,66±11,54	27,35±12,18	22,57±15,43	27,49±14,04
	amplitude	0-84,84	12,17-43,80	3,36-58,65	0-51,15	0-69,96
α1-Glicoproteína ácida	Média±s	25,86±20,28	21,05±14,81	26,79±14,99	27,17±15,11	29,91±27,05
	amplitude	0-94,50	0-78,17	0-64,14	0-64,45	0-224,47

Moser et al. (1994), ao avaliarem os teores de transferrina em vacas e bezerros em diferentes condições fisiológicas e sanitárias, verificaram valores entre 200 a 660mg/dL em animais sadios, semelhantes aos relatados neste estudo, entretanto não houve diferença entre as faixas etárias, diferente dos resultados obtidos por esses autores, que relataram menor concentração dessa proteína em animais adultos.

Os teores de haptoglobina foram mais baixos que os descritos por Fagliari et al. (2006) e diferentes daqueles verificados por Eckersall e Conner (1988), que citaram sua ausência em animais sadios ou em concentrações muito baixas em bezerros. A concentração dessa proteína de fase aguda foi mais alta que a encontrada por Ramirez et al. (2002), em vacas da raça Holandesa e mestiças (17,5 a 17,7mg/dL); também foi diferente dos achados de Chan et al. (2004), que estudaram as oscilações nos teores dessa proteína, durante o período de um ano, em vacas da raça Holandesa, e obtiveram valor basal de 7,36mg/dL.

Observou-se correlação positiva média entre os valores da α 1-glicoproteína ácida e de haptoglobina. Cairoli et al. (2006) descreveram comportamento semelhante e pequena elevação fisiológica dessas proteínas no período pré-parto. A concentração de α 1-glicoproteína ácida foi semelhante aos valores encontrados por Fagliari et al. (2006) e próxima à média obtida para vacas adultas da raça Holandesa (28,32 \pm 8,23mg/dL), citada por Tamura et al. (1989). É possível que a α 1-glicoproteína ácida participe na manutenção da homeostase local, reduzindo os danos teciduais provocados pelos processos inflamatórios, e esteja envolvida no processo de resistência às bactérias (Lecchi et al., 2009).

Embora a raça Curraleiro tenha sua origem em raças europeias, como a Jersey ou a Holandesa, e seja uma adaptação das raças ibéricas, como a Toro de Lídia e a Criollo Argentino, utilizadas para a discussão dos resultados deste trabalho, as diferenças e semelhanças encontradas são compreensíveis, pois pode haver interferência múltipla de fatores genéticos, nutricionais, metabólicos, fisiológicos e imunológicos nos níveis das proteínas (Kaneko, 1997).

CONCLUSÃO

Foi possível verificar variações significativas nas concentrações de PT, G, IgA, IgG e fibrinogênio em relação à idade e correlação positiva entre os níveis séricos de haptoglobina e α 1-glicoproteína ácida. Os resultados descritos podem ser úteis em estudos comparativos da raça Curraleiro, entretanto há necessidade de pesquisar sobre a relevância dessas proteínas na avaliação de estados clínicos e fisiológicos desses animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARINI, A.C. *Bioquímica sérica de bovinos (Bos taurus) sadios da raça Curraleiro de diferentes idades*. 2007. 104f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- BORGES, A.C. *Constituintes sanguíneos e bioquímicos normais de bovinos (Bos taurus) sadios da raça Pantaneira, em diferentes idades, criados em regime extensivo*. 2008. 120f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- BUTTLER, J.E. Review of the bovine immunoglobulins. *J. Dairy Sci.*, v.54, p.1315-1316, 1971.
- CAIROLI, F.; BATTOCCHIO, M.; VERONESI, M.C. et al. Serum protein pattern during cow pregnancy: Acute-phase proteins increase in the peripartum period. *Electrophoresis*, v.27, p.1617-1625, 2006.
- CHAN, J.P.; CHU, C.C.; FUNG, H.P. et al. Serum haptoglobin concentration in cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, v.66, p.43-46, 2004.
- ECKERSALL, P.D.; CONNER, J.G. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet. Res. Commun.*, v.12, p.169-178, 1988.
- FAGLIARI, J.J.; RIZOLLI, F.W.; SILVA, S.L. et al. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, p.450-453, 2006.
- FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de proteína total e suas frações eletroforéticas e da

- atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de vacas holandesas, antes e após o parto. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.52, p.11-16, 2000.
- GORDON, A.H. *Electrophoresis of proteins in polyacrylamide and starch gels*. New York: Elsevier, 1995. 213p.
- GRÜN WALDT, E.G.; GUEVARA, J.C.; ESTÉVEZ, O.R. et al. Biochemical and haematological measurements in beef cattle in Mendoza Plain Rangelands (Argentina). *Trop. Anim. Health Prod.*, v.37, p.527-540, 2005.
- HELLMAN, N.E.; GITLIN, J.D. Ceruloplasmin, metabolism and function. *Ann. Rev. Nutr.*, v.22, p.439-458, 2002.
- JAIN, N.C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.
- JORDAN, D.; VILLA, N.A.; GUTIÉRREZ, M. et al. A. Indicadores bioquímicos sanguíneos en ganado de lidia mantenido en pastoreo en la cordillera central colombiana. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, v.19, p.18-26, 2006.
- KANEKO, J.J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5.ed. San Diego: Academic, 1997. p.117-129.
- KIDDY, C.A.; McCANN, R.; MAXWELL, J.C. et al. Changes in levels of immunoglobulins in serum and other body fluids immediately before and after parturition. *J. Dairy Sci.*, v.54, p.1325-1327, 1971.
- LECCHI, C.; AVALLONE, G.; GIUROVICH, M. et al. Extra hepatic expression of the acute phase protein alpha 1-acid glycoprotein in normal bovine tissues. *Vet. J.*, v.180, p.256-258, 2009.
- MOLL, T. Immunization with bovine enteroviruses and quantitative studies on bovine colostral IgG. *J. Dairy Sci.*, v.54, p.1331-1332, 1971.
- MOSER, M.; PFISTER, H.; BRUCKMAIER, R.M. et al. Blood serum transferrin concentration in cattle in various physiological states, in veal calves fed different amounts of iron, and in cattle affected by infectious and non-infectious diseases. *J. Vet. Med. A*, v.41, p.413-420, 1994.
- PETERSEN, H.H.; NIELSEN, J.P.; HEEGAARD, P.M.H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet. Res.*, v.35, p.163-187, 2004.
- RAMIREZ, N.; MOLINA, S.; SIERRA, G. et al. Prevalencia de niveles séricos de haptoglobina en bovinos adultos, de cuatro hatos de Antioquia. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, v.15, p.160-168, 2002.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: FEPMVZ, 1998. 221p.
- SKINNER, J.G. International standardization of acute phase proteins. *Vet. Clin. Pathol.*, v.30, p.2-7, 2001.
- SNOECK, V.; PETERS, I.R.; COX, E. The IgA system: a comparison of structure and function in different species. *Vet. Res.*, v.37, p.455-467, 2006.
- SOUZA, P.M. *Perfil bioquímico sérico de bovinos das raças Gir, Holandesa e Girolanda, criados no Estado de São Paulo - Influência de fatores de variabilidade etários e sexuais*. 1997. 168f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SOUZA, R.M.; BIRGEL JUNIOR, E.H.; AYRES, M.C.C. et al. Influência dos fatores raciais na função hepática de bovinos da raça Holandesa e Jersey. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.41, p.306-312, 2004.
- TAMURA, K.; YATSU, T.; ITOH, H. et al. Isolation, characterization, and quantitative measurement of serum alpha 1-acid glycoprotein in cattle. *Jpn. J. Vet. Sci.*, v.51, p.987-994, 1989.
- WEBER, K.; OSBORN, M. The reability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, v.244, p.4406-4412, 1969.